# EIN BEITRAG ZUR KENNTNISS DER EIWEISSBILDUNG IN DER PFLANZE.

## INAUGURAL-DISSERTATION

DER

## HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

## UNIVERSITÄT LEIPZIG

ZUR

ERLANGUNG DER ACADEMISCHEN DOCTORWÜRDE

VORGELEGT VON

**CARL OSKAR MÜLLER**

AUS MEERANE i. S.

**BERLIN 1886.**

DRUCK VON GEBR. UNGER (TH. GRIMM)

SCHÖNEBERGERSTRASSE 17A.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545809_0149

## Einleitung.

Wenn man auch zur Zeit trotz vielfacher Bemühungen noch keinen Einblick in die chemische Constitution der Eiweissstoffe erlangt hat, so ist doch durch die Untersuchungen von SCHÜTZENBERGER, RITTHAUSEN, HABERMANN, HLASIWETZ u. A. festgestellt, dass bei der Zersetzung der Proteinstoffe durch Kochen mit verdünnten Säuren oder Alkalien Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin als constante Spaltungsproducte auftreten. Bedenkt man nun, dass bei dieser Zersetzung stets Ammoniak entweicht, und zieht man ferner in Betracht, dass Asparagin beim Kochen sehr leicht Asparaginsäure liefert, so wird man sich gern der Ansicht von HABERMANN und HLASIWETZ anschliessen, nach welchen beiden Forschern Asparagin und ebenso Glutamin als Spaltungsproducte der Albuminstoffe zu betrachten sind, während das Auftreten der Amidosäuren in der weiteren Zersetzung ihrer Amide begründet ist. Werden nun innerhalb des pflanzlichen Organismus die genannten Stoffe gefunden, so liegt wohl der Gedanke am nächsten, dieselben hier ebenfalls als Spaltungsproducte der Eiweissstoffe aufzufassen. Auf der anderen Seite scheint es jedoch a priori ebenso wahrscheinlich, dass dieselben der progressiven Metamorphose angehören und bei der Bildung des lebensthätigen Albumins eine Rolle spielen. Endlich legen ihre Löslichkeit in Wasser und

ihre Diffusionsfähigkeit den Gedanken nahe. sie als Leitungsproducte der mit Ausnahme der Peptone schwer löslichen und nicht diffusionsfähigen Eiweissstoffe anzusprechen. —

Dass einem jeden der erwähnten 4 Körper eine ähnliche, wenn auch nicht gleiche Rolle im Pflanzenreiche zukommt, ist kaum zu bezweifeln; man wird deshalb bei Untersuchungen über die Wichtigkeit dieser Verbindungen für den Umsatz und die Neubildung des pflanzlichen Eiweisses gut thun, erst die Rolle einer einzigen sicher zu ergründen, und diese für die übrigen zu verallgemeinern versuchen. Von dieser Ansicht geleitet, unternahm ich in vorliegender Arbeit die physiologischen Beziehungen des Asparagins zu den Proteinstoffen festzustellen; und zwar wählte ich das Asparagin, weil es erstens in allen Pflanzen beobachtet werden kann, und zweitens, da sein mikrochemischer Nachweis sich sicher und leicht ausführen lässt.

## Literatur und kritische Uebersicht derselben.

Das Asparagin oder Amidobernsteinsäureamid wurde im Jahre 1805 von N. L. VAUQUELIN und P. J. ROBIQUET[1]) in den Schösslingen von Asparagus officinalis, dem Spargel, entdeckt. In vielen Pflanzen konnte man es später nachweisen, und namentlich zeichnen sich die Keimpflanzen der Papilionaceen durch einen reichlichen Asparagin-Gehalt aus. Hierüber liegen verschiedene Untersuchungen vor. DESSAIGNES und CHAUTARD[2]) bestimmten den Asparagingehalt in einem Liter Saft von Erbsenkeimlingen zu 9,2 *g*, von Bohnenkeimlingen zu 14,0 *g* und in dem gleichen Volumen Saft von Schminkbohnen zu 5,6 *g*. E. SCHULZE und UMLAUFT zeigten[3]), dass in Keimpflanzen von Lupinus luteus, die im Dunkeln bis zu einer Länge von 10—12 *cm* gewachsen waren, das fragliche Amid ca. $\frac{1}{3}$ des gesammten Trockengewichts ausmache. Eine Aufzählung der Pflanzen, bei denen man gelegentlich das Amid im Zellsafte gelöst gefunden hat, und

1) VAUQUELIN et ROBIQUET, Annales de Chimie, Tome 57, p. 88—93; Jahrg. 1806.

2) Nach A. und TH. HUSEMANN's Lehrbuch der Pflanzenstoffe; Originalabhandlungen standen mir nicht zur Verfügung.

3) Landwirthsch. Versuchs-Stationen, Bd. 18 (1875), p. 2.

der übrigen quantitativen Untersuchungen würde nicht zweckentsprechend sein; ausführliche Angaben finden sich über diese Punkte in A. und Th. HUSEMANN's Lehrbuch der Pflanzenstoffe, wo ebenfalls die angewandten Darstellungs- und Bestimmungsmethoden Erwähnung gefunden haben. Ob das Asparagin auch in niederen, chlorophyllfreien Gewächsen vorkommt, ist noch nicht genügend untersucht. Es liegen hierüber nur Untersuchungen von REINKE vor, welcher das fragliche Amid in den Sporen von Aethalium septicum fand. Ob ihm hier aber dieselbe Rolle wie in den höheren chlorophyllführenden Pflanzen zukommt, ist bis jetzt noch unbekannt.

Was die physiologische Bedeutung des Asparagins im Pflanzenreiche anbetrifft, so haben sehr verschiedene Ansichten geherrscht. Der erste Forscher, der sich über die Function desselben aussprach, war TH. HARTIG. Dieser schrieb dem Asparagin eine allgemeine Verbreitung in der Pflanzenwelt zu und hielt es für das Leitungsproduct der Proteinstoffe. In seinem Werke: „Die Entwickelungsgeschichte des Pflanzenkeims, dessen Stoffbildung und Stoffwandlung während der Vorgänge des Reifens und Keimens (1858)" bezeichnet er mit dem Namen „Gleis" eine Gruppe krystallisationsfähiger, stickstoffhaltiger Pflanzenstoffe, dessen eine Art das Asparagin bildet. Er sagt darüber folgendes[1]): „Dass dieser Stoff, den ich mit dem Sammelnamen Gleis (gleisen, glänzen) bezeichnet habe, mit dem Klebermehl[2]) und dessen natürlicher Lösung in sehr naher, physiologischer Beziehung stehe, beweist sein Verschwinden, gleichzeitig mit der Reife des Kleberkorns und mit eintretender Oelbildung, beweist sein Wiederauftreten mit dem Verschwinden der Klebermehllösung und des Oeles im Keimungsprocesse. Der Zucker des Samenkorns verhält sich ganz in gleicher Weise; auch er verschwindet, wenigstens grösstentheils, beim Reifen stärkemehlhaltiger Sämereien (z. B. der Zuckergehalt der jungen Erbsen, Bohnen), und stellt sich beim Keimen wieder her (Malzen des Getreides). Der Gleiskrystall ist daher gewissermassen der Zucker des Klebermehls".

Eine andere Ansicht als HARTIG über die physiologische Be-

1) l. c., p. 128.
2) jetzt Proteinstoffe genannt.

deutung des Asparagins hat BOUSSINGAULT[1]). Er hält das Asparagin für das Product einer im pflanzlichen Organismus stattfindenden Verbrennung, welches aber durch die Einwirkung des Lichtes eine weitere Verwendung im Stoffwechsel findet. Seine eigenen Worte seien hier angeführt: „L'animal de l'organisation la plus simple n'émet pas seulement, en respirant de la chaleur, de l'eau, de l'acide carbonique; une partie de l'albumine qu'il consomme est modifiée par la combustion respiratoire en un composé azoté cristallin, l'urée, que l'on rencontre dans les excrétions. Dans la combustion respiratoire d'une plante vivant à l'obscurité, une semblable modification de l'albumine ne pouvait être aussi manifeste, par la raison que les végétaux sont dépourvus d'organes excréteurs; mais dans les sucs remplissant les cellules, on trouve un principe immédiat cristallin, l'asparagine, qui est un amide comme l'urée, et se transformant aussi facilement en aspartate d'ammoniaque que l'urée se transforme en carbonate d'ammoniaque. — Un graine qui germe, un végétal vivant dans un lieu obscur, élaborent de l'asparagine. Une plante produit ce principe, même à la lumière, dans les premières phases de la vie, tant que domine la force éliminatrice, tant qu'elle laisse brûler plus de carbone qu'elle ne révivifie d'acide carbonique . . . . . Dans une plante venue à l'obscurité, l'asparagine s'accumule, parce qu'elle n'est pas modifiée par l'action de la lumière."

Wir sehen also, dass die beiden Forscher, HARTIG und BOUSSINGAULT, dem Asparagin eine allgemeine Verbreitung und allgemeine physiologische Bedeutung im Pflanzenreiche zuschreiben. Dieser Ansicht trat PFEFFER entgegen, da er bei der Knospenbildung von Comarum palustre, Syringa persica, Tilia parvifolia und einigen anderen Pflanzen ein negatives Resultat bei der Prüfung auf Asparagin erzielte, das sich ebenfalls ergab, als er die Axelsprossen verschiedener Leguminosen, wie Lupinus luteus, Caragana makrophylla auf Asparagin untersuchte[2]). Nur bei der Keimung der Papilionaceen konnte er das Vorhandensein dieses Stoffes stets constatiren, und er schloss daraus, dass das Asparagin ein bei der genannten Pflanzenfamilie nur während der Keimungs-

1) Comptes rendus, de l'Académie des Sciences, Bd. 58. p. 917
2) PRINGSHEIM, Jahrn. f. wissensch. Bot. Bd. 8, p. 563.

periode auftretender Körper sei, und dass dasselbe die Wanderung der an sich nicht diffusionsfähigen Eiweissstoffe bewirke. — Wie er hier die zuerst von HARTIG behauptete allgemeine Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche leugnet, so weist er auch die von BOUSSINGAULT ausgesprochene Betheiligung des Lichtes bei der Verarbeitung des Amids zu Protoplasma zurück. Die Experimente, welche PFEFFER bei dieser Untersuchung anstellte, geschahen mit Keimpflanzen von Lupinus luteus. Dieselben verarbeiten das während der Keimung gebildete Asparagin nur bei Lichtgegenwart wieder, während sie bei Lichtabschluss diese Verbindung bis an ihr Lebensende im Zellsafte gelöst beibehalten. Aus der Thatsache, dass Asparagin procentig ärmer an Kohlenstoff und reicher an Stickstoff als die Proteinstoffe ist, schloss genannter Forscher, dass es zur Regeneration des Asparagins zu Eiweiss kohlenstoffhaltiger Körper bedürfe. Da sich solche namentlich als Kohlehydrate in der Pflanze vorfinden, so führte PFEFFER den eigenthümlichen Einfluss des Lichtes bei der Regeneration des Amids zu Protoplasma auf den Kohlensäure-Assimilationsprocess zurück, insofern als durch denselben neue Kohlehydrate gebildet würden. Als Beweis für die Richtigkeit seiner Behauptung erwähnt er die Thatsache, dass Lupinenkeimlinge beim Wachsen in kohlensäurefreier Luft und bei Lichtgegenwart sich ebenso in Bezug auf das Asparagin verhalten, wie wenn dieselben fortwährend im Dunklen gehalten werden. Auf seine Untersuchungen sich stützend, schreibt PFEFFER dem Asparagin folgende physiologische Rolle im Pflanzenreiche zu: Das Asparagin dient bei den Papilionaceen während der Keimung zur Stickstoffwanderung als ein lösliches Uebergangsglied des unlöslichen Sameneiweisses zum lebensthätigen Protoplasma der Zelle. Bei Anwesenheit von disponiblen Kohlehydraten wird es zu Eiweiss regenerirt, während ein Mangel der ersteren eine Anhäufung des Asparagins bedingt.

Der PFEFFER'schen Annahme trat BORODIN entgegen. Aus dessen Untersuchungen [1]) geht hervor, dass man in allen Pflanzen, in der einen schneller, in der anderen langsamer, Asparagin anhäufen kann, wenn man abgeschnittene lebenskräftige Theile im Dunklen wachsen lässt. Er bemerkt ausdrücklich, dass die zu

1) Bot. Ztg. 1878, p. 801.

Versuchen verwendeten Pflanzentheile vollständig lebensfähig blieben. Er führt diese Thatsache auf den Umstand zurück, dass durch die Abtrennung der Organe von der Mutterpflanze und durch die Entziehung des Lichtes die Menge des stickstofffreien Nährmaterials sehr beschränkt würde. BORODIN hält demnach die von PFEFFER ausgesprochenen Beziehungen zwischen den Kohlehydraten und der Asparaginbildung resp. Weiterverarbeitung aufrecht; dagegen konnte er durch seine Versuche beweisen, dass, der Ansicht PFEFFER's widersprechend, das Asparagin eine allgemeine physiologische Bedeutung in der Pflanzenwelt habe. Während ferner PFEFFER das fragliche Amid für ein bei der Keimung auftretendes Leitungsproduct der nicht diffusionsfähigen Sameneiweissstoffe erklärt, hält BORODIN das Asparagin für einen Körper, der in der Pflanze fortwährend gebildet und weiter verarbeitet wird. Nach ihm [1]) werden fortwährend durch den Lebensprocess die pflanzlichen Proteinstoffe unter Bildung von Asparagin, Glutamin etc. zersetzt; sind aber Kohlehydrate in genügender Menge vorhanden, so wird das Asparagin rasch zu Eiweiss regenerirt, so dass nur bei Mangel von jenen Verbindungen Asparagin in der Pflanze angehäuft werden kann. Gegen die von PFEFFER aufgestellte und von BORODIN adoptirte Ansicht, nach welcher den Kohlehydraten die Regeration des Asparagins zu Eiweiss obliegt, hat E. SCHULZE [2]) verschiedene Einwände erhoben. Derselbe fand trotz der Anwesenheit von Glykose (Sammelname für alle in der Pflanze vorkommenden, die FEHLING'sche Lösung reducirenden Kohlehydrate) in den Lupinenkeimlingen auch Asparagin; und vor allen Dingen wurde SCHULZE zu Bedenken gegen die PFEFFER-BORODIN'sche Ansicht durch den Umstand veranlasst, dass in den an Zucker reichen Runkelrüben beträchtliche Mengen von Asparagin und Glutamin vorhanden sind. Und dass man hier den Mangel an Kohlehydraten oder überhaupt an stickstofffreien Substanzen nicht als die Ursache für die Asparagin-Anhäufung annehmen kann, liegt ja klar zu Tage. Diese von E. SCHULZE erhobenen Einwände, die ja der Annahme PFEFFER's widersprechen, hat letztgenannter Forscher zu widerlegen versucht.

1) l. c., p. 826.
2) Landwirthsch. Jahrb. 1880, p. 730.

Er schreibt dabei verschiedenen Zellen eine specifische Function im Eiweissumsatze zu und sagt in seinem Lehrbuche der Pflanzenphysiologie[1]) wie folgt: „Wenn SCHULZE an der trotz Existenz stickstofffreier plastischer Körper fortschreitenden Asparagin-Bildung in Lupinenkeimpflanzen Anstoss nimmt, so verkennt er die in allen physiologischen Functionen massgebenden specifischen Befähigungen. Die Zellen, in welchen Eiweissstoffe zertrümmert werden, müssen ja mit der Aufgabe, solche zu regeneriren, nicht vertraut sein . . . .“ Auch BORODIN giebt für diese und ähnliche Einwände eine Erklärung. Nach ihm kommen den Kohlehydraten verschiedene Fähigkeiten zur Regeneration des Asparagins zu Eiweiss zu, so dass die eine Art die Regeneration begünstigt (Glykose), die andere dagegen nicht im geringsten herbeiführt (Stärke). Er sagt darüber selbst[2]): „Obgleich wir zur Zeit noch nicht mit Gewissheit angeben können, welche unter den verschiedenen stickstofffreien Substanzen des Pflanzenkörpers am geeignetesten als Material zur Regeneration von Asparagin zu Eiweiss erscheinen, können wir wenigstens vermuthen, dass es Glykose sei. Stärkemehl und Glykose verhalten sich nun zu einander, wie potentielle Energie oder Spannkraft zu lebendiger Kraft. So lange nur Stärke vorhanden ist, muss sich der betreffende Theil wie ein gar keine stickstofffreien Baustoffe führender verhalten: erst in dem Grade, als sich die indifferente und unlösliche Stärke in Glykose verwandelt, kommt sie in Betracht.“ Als einen weiteren Grund für das Unzutreffende der SCHULZE'schen Beobachtungen mit seiner Ansicht führt BORODIN den Umstand an, dass die Glykose in solchen Theilen deshalb nicht zur Asparagin-Umbildung Verwendung finde, weil sie für andere Zwecke, z. B. Wachsthum, verbraucht würde[3]).

Auch E. SCHULZE[4]) nimmt eine fortwährende Eiweisszersetzung und Neubildung desselben an. Jedoch glaubt er, dass die in der Pflanze neben einander entstehenden Eiweissspaltungsproducte für die Regeneration des Albumins ungleich tauglich sind. Nach ihm ist bei den Lupinen das Asparagin weniger gut

1) PFEFFER, Pflanzenphysiologie, Bd. I, p. 300.
2) l. c., p. 829.
3) l. c., p. 831.
4) l. c., p. 718 u. f.

zur Eiweissbildung geeignet, als Leucin, Glutamin und Tyrosin. Er stützt diese Annahme auf die von ihm gefundene Thatsache, dass in den Lupinenkeimlingen das Asparagin die noch auftretenden Amidoverbindungen in Rücksicht auf das Verhältniss, wie sie bei der künstlichen Zersetzung der Eiweissstoffe entstehen, an Menge weit übertrifft.

Während die angeführten Autoren glauben, dass das Asparagin aus den Eiweissstoffen der Pflanze entstehe, halten es EMMERLING[1]) und KELLNER[2]) für die Vorstufe des zu bildenden Protoplasma. Sie sind der Ansicht, dass es sich aus den anorganischen stickstoffhaltigen Salzen und den Kohlehydraten der Pflanze bilde, um alsdann zur Protoplasmabildung verwendet zu werden. Diese Annahme wird leider durch zu wenige Versuchsreihen unterstützt.

Aus der angeführten Literatur geht hervor, dass die allgemeine Verbreitung des Asparagins schon von HARTIG und BOUSSINGAULT behauptet wurde, während PFEFFER das Vorkommen des Asparagins nur auf die Papilionaceen-Keimlinge beschränkt wissen wollte. Doch haben die Untersuchungen von BORODIN dargelegt, dass man in allen höheren Pflanzen den fraglichen Stoff beobachten kann. Hierdurch ist aber die allgemeine Verbreitung und allgemeine physiologische Bedeutung des Amids im Pflanzenreiche nachgewiesen.

Was die Ursachen der Asparagin-Anhäufung betrifft, so wissen wir nur, dass durch Verdunkelung eine Ansammlung des Asparagins in der Pflanze erzielt wird. Auf die PFEFFER-BORODIN'sche Ansicht, nach welcher diese Anhäufung als die Folge eines eingetretenen Mangels an disponiblen Kohlehydraten aufzufassen ist, komme ich später zurück.

Die Frage, welchen in der Pflanze vorkommenden Verbindungen das Asparagin seine Entstehung verdankt, haben alle Autoren zu beantworten versucht. Es treten uns in diesem Punkte die verschiedensten Ansichten entgegen. Einige Forscher glauben, wie wir oben sahen, dass das pflanzliche Eiweiss das Asparagin liefere, andere dagegen suchen dessen Entstehung aus den Kohlehydraten und den anorganischen Stickstoffverbindungen

1) NOBBE, Versuchs-Stationen, Bd. 24, 1880, p. 113.
2) Centralbl. f. Agric.-Chemie, 1879.

nachzuweisen. Welche von diesen Annahmen die richtigste ist, lässt sich auf Grund der heutigen Sachlage nicht sagen, da keine zwingenden Thatsachen vorliegen, die eine oder die andere Anschauung zu adoptiren.

Das Problem, wodurch das Asparagin zu Eiweiss verarbeitet wird, ist ebenfalls noch ungelöst. Wenn BORODIN behauptet, dass das durch Verdunkelung gebildete Asparagin auch wieder im Stoffwechsel der Pflanze Verwendung findet, so ist dies eine Verallgemeinerung der Thatsache, dass bei den Papilionaceenkeimlingen das auftretende Asparagin unter sonst normalen Umständen mit fortschreitendem Wachsthume verschwindet. Jedoch dürfte es sehr gewagt sein, die Functionen des in Papilionaceenkeimlingen beobachteten Asparagins mit denen, die demselben in anderen Pflanzen zukommen, für identisch zu erklären. Denn man muss wohl bedenken, dass wir es bei den Papilionaceenkeimlingen mit einem Körper zu thun haben, der unter normalen Verhältnissen beobachtet werden kann, während BORODIN von einem Stoffe spricht, der durch anormale Umstände in den Pflanzen zur Anhäufung gebracht wird. BORODIN's Untersuchungen lassen uns vollständig im Unklaren, ob das durch Verdunkelung angehäufte Asparagin überhaupt wieder im pflanzlichen Organismus verarbeitet wird. Und so lange als keine weiteren Beweise für die BORODIN'sche Behauptung beigebracht sind, kann man mit demselben Rechte das von BORODIN durch Lichtabschluss angehäufte Asparagin als ein durch pathologische Umstände hervorgerufenes, für eine weitere Verarbeitung im pflanzlichen Organismus untaugliches Nebenproduct des Stoffwechsels ansehen, wie es genannter Forscher für ein Spaltungsproduct des sich fortwährend zersetzenden und regenerirenden Protoplasmas erklärt, zu welcher Regeneration es verwendet würde.

Dass dem Lichte bei der Verarbeitung des Asparagins eine indirecte Rolle zukommt, hat PFEFFER für die Lupinenkeimlinge, wie wir oben sahen, bewiesen. Ob aber die Anwesenheit von Kohlehydraten die weitere Verwendung im Stoffwechsel, dagegen ein Mangel derselben die Anhäufung des Asparagins bedingt, ist noch zweifelhaft. BORODIN hat die Ansicht PFEFFER's adoptirt, ohne dieselbe näher zu prüfen. Meiner Meinung nach sprechen die Einwände SCHULZE's genügend gegen die Annahme der beiden

erwähnten Forscher. Dass sich dieselbe nicht an den an Asparagin und Zucker reichen Runkelrüben als richtig erweist, liegt klar zu Tage. Und die Erklärung PFEFFER's, nach welcher verschiedenen Zellen eine specifische Function bei der Eiweisszersetzung auf der einen und der Neubildung desselben auf der anderen Seite zukommt, hat keine allgemeine Gültigkeit. Sie mag wohl für die Lupinen und alle die Pflanzen gelten, die unter normalen Bedingungen asparaginhaltig sind, doch lässt sie sich nicht für die Pflanzen beibehalten, in denen nur bei Lichtabschluss das fragliche Amid nachgewiesen werden kann. Denn wie BORODIN einerseits gefunden hat, und ich andererseits darlegen werde, geht im normalen Zustande der Pflanze eine fortwährende Bildung und Weiterverarbeitung des Asparagins Hand in Hand. Hier kann man doch nicht annehmen, dass einige Zellen mit der Bildung des Amids und andere mit dessen Verarbeitung betraut sind. Würde dies der Fall sein, so könnte man doch unter normalen Umständen auch bei den Pflanzen, die nur im Dunkeln Asparagin finden lassen, auf dem Wege von den Amid bildenden zu den Amid verarbeitenden Zellen Asparagin nachweisen, was jedoch den zur Zeit vorliegenden Beobachtungen widerspricht.

Auch BORODIN's Erklärung für die von E. SCHULZE erhobenen Einwände ist nicht zutreffend, nach welcher einerseits die Löslichkeitsverhältnisse der Kohlehydrate und andererseits ihre mögliche Bestimmung zu anderen Zwecken in Betracht zu ziehen ist. Unbeachtet, dass diese Erklärung auf zwei völlig unbewiesenen Vermuthungen beruht, lässt sie sich nicht mit allen beobachteten Thatsachen in Einklang bringen. Dies zeigt SCHULZE an von ihm untersuchten Kartoffelknollen, welche deutlich neben Glykose Asparagin finden liessen. „Diese Erscheinung", sagt erwähnter Forscher in seiner bereits citirten Abhandlung[1]), „erklärt BORODIN durch die Annahme, dass die Glykose deshalb nicht von Wirkung auf die Eiweisszersetzungsproducte ist, weil sie nach dem Eintritt in die Knollen sofort in Stärkemehl, also in eine unwirksame Form übergeführt wird. Diese Erklärung setzt aber doch voraus, dass sich Glykose in den Knollen nur in höchst geringer Menge vorfindet. Der Saft der von uns untersuchten

1) l. c., p. 738.

Knollen enthielt aber eine gar nicht unbeträchtliche Menge von reducirendem Zucker, nämlich 0,64 pCt. (als Glykose in Rechnung gestellt). Man muss fragen, wie es zugeht, dass dieser Zucker das Asparagin nicht in Eiweiss umzuwandeln vermag?"

Vergegenwärtigen wir uns das Gesagte, so finden wir, dass uns folgende vier offene Fragen entgegentreten:

I. Ist das durch Verdunkelung bei Pflanzen, die unter normalen Umständen asparaginfrei sind, angehäufte Asparagin als ein Nebenproduct des Stoffwechsels aufzufassen?

II. Finden überhaupt Beziehungen zwischen der Asparagin-Bildung resp. Verarbeitung und dem Mangel oder der Anwesenheit von Kohlehydraten statt?

III. Auf welche Processe ist einerseits die Verarbeitung des Asparagins zu Eiweiss, und andererseits dessen Ansammlung zurückzuführen?

IV. Aus welchen in der Pflanze vorkommenden Verbindungen wird das Asparagin gebildet?

Die physiologische Bedeutung des Asparagins nach diesen vier Gesichtspunkten hin zu untersuchen ist der Zweck der vorliegenden Arbeit.

## Mikrochemischer Nachweis.

Da das Asparagin bei seinem Vorkommen in den Pflanzen stets im Zellsafte gelöst enthalten ist, so benutzte schon TH. HARTIG die Unlöslichkeit des Amids in absolutem Alkohol, um dasselbe in krystallisirter Form zu erhalten. Schnitte, die nicht zu dünn waren, wurden mit absolutem Alkohol betupft, und derselbe alsdann verdunsten lassen. Ebenso erzielte er Krystalle, wenn er „flache Scheibenschnitte auf der Objectplatte mit einer ganz flachen Oelschicht bedeckte", und eine Verdunstung des Wassers eintreten liess[1]). PFEFFER wendet zur Erlangung von Asparagin-Krystallen ebenfalls absol. Alkohol an; nur empfiehlt er, eine zu weit gehende Verdunstung desselben durch häufigeres Nachgeben zu verhüten. Demgegenüber setzt BORODIN einmal Alkohol zu und lässt die Präparate langsam vollständig austrocknen. Diese

1) HARTIG, Entwickelungsgesch. d. Pflanzenkeims, p. 127.

Methode hat sich bei meinen Untersuchungen gut bewährt, erstens, weil ich durch sie die best ausgebildeten Krystalle erzielte, und da sie zweitens, wie bereits BORODIN[1]) hervorhebt, die Präparate bequem, einfach in Luft liegend, zu conserviren erlaubt. Da ferner der grösste Theil der ausgeschiedenen Asparagin-Krystalle gewöhnlich an der unteren Fläche des Deckgläschens haftet, so kann dasselbe nach dem Austrocknen mit demselben von den Schnitten entfernt werden, was weitere Manipulationen sehr erleichtert.

Durch Zusatz von absolutem Alkohol krystallisiren jedoch sehr verschiedene Substanzen aus, und es bedarf einer eingehenden Analyse, um diese Krystalle in ihrer chemischen Zusammensetzung zu erkennen. HARTIG schloss aus der Form der Krystalle auf Asparagin. Er giebt in seinem erwähnten Werke[2]) Abbildungen der Krystalle, die er für Asparagin hält; jedoch hat schon PFEFFER Bedenken dagegen erhoben, ob man es hier in allen Fällen mit Asparagin zu thun hat; und es ist auch in der That bei den meisten der gezeichneten Formen eine mikrokrystallographische Bestimmung unmöglich. Allerdings finden wir in diesen Abbildungen auch die für das Asparagin so charakteristischen rhombischen Tafeln, die ich weiter unten beschreiben werde. HARTIG ist aber der Ansicht[3]), dass die letzteren sich in ihrer chemischen Constitution von den Krystallen des Asparagins unterscheiden und erst einer bei der Präparation aus Asparagin entstehenden Substanz angehören. Dass er jedoch hier Unrecht hat, werden wir noch sehen.

PFEFFER[4]) zieht ebenfalls die krystallographische Beschaffenheit der ausgeschiedenen Substanzen in Betracht, um ihre chemische Zusammensetzung zu erkennen, und erwähnt auch die dem Asparagin eigenthümlichen rhombischen Tafeln. Er irrt jedoch in der Behauptung, dass die aus dem Pflanzensafte durch absoluten Alkohol ausgeschiedenen Krystalle fremder Substanzen sich von denen des Asparagins durch ihre ganz verschiedene

1) Bot. Ztg. 1878, p. 803.
2) l. c., Taf. IV, Fig. 18.
3) l. c., p. 128.
4) PRINGSHEIM's Jahrb. f. wissensch. Bot.; Bd. 8, p. 534.

Form und sehr geringe Grösse unterscheiden[1]). Es bildet nämlich der bei Zusatz von absolutem Alkohol sich aus dem Pflanzensafte ausscheidende Kalisalpeter grosse Krystalle, die sich von denen des Asparagins durchaus nicht ohne Weiteres unterscheiden lassen, sondern den Nachweis des fraglichen Amids sehr erschweren. Dies erwähnt auch BORODIN[2]). Er betont als Unterscheidungsmerkmal der beiden Krystallformen die Verschiedenheit der Differenz der an den Rhomben auftretenden Winkel, insofern als dieselbe an den rhombischen Tafeln des Asparagins grösser ist, als diejenige an den ähnlichen Formen des Kalinitrats. Genauere Angaben über diese Verschiedenheit hat genannter Autor nicht gemacht.

Ich habe eine Messung der auftretenden Winkel vorgenommen, um die Anwesenheit von Asparagin-Krystallen bestätigen zu können. Bei den Rhomben unseres Amids tritt nämlich ein Winkel von 129° 18′ auf, während an denselben Formen des Salpeters dieselben nur 99° 44′, 109° 56′ und 118° 50′ betragen können[3]). Mit Hilfe eines centrirten Objecttischchens konnten die im Präparate beobachteten Krystalle so lange gedreht werden, bis ein Schenkel des zu messenden Winkels einem Arme des Fadenkreuzes parallel wurde. Alsdann wurde der andere Schenkel in die parallele Lage zu demselben Arme des Fadenkreuzes gebracht. Der erforderliche Drehungswinkel, den Krystall aus der ersteren Lage in die letztere zu bringen, war der Supplementwinkel des zu messenden Kantenwinkels am Rhombus. Obwohl hierbei der Beobachtungsfehler wenige Grade betragen konnte (z. B. bei kleinen Krystallen), so war doch und namentlich nach einiger Uebung, eine Verwechselung der Asparagin-Krystalle mit denen des Kalinitrats ausgeschlossen. Diese rhombischen Tafeln

Krystall-Formen des

Asparagins Kalisalpeters

1) l. c., p. 536.
2) Bot. Ztg. 1882, p. 589/590.
3) GROTH, Krystallogr. p. 453 u. 464.

des Asparagins zeigten sich gewöhnlich in den Präparaten, wenn man dieselben nach Zusatz von absolutem Alkohol langsam austrocknen liess. Dass dieselben aber aus Asparagin bestehen und sich nicht etwa, wie HARTIG glaubt, von dem Amid in ihrer chemischen Zusammensetzung unterscheiden, kann man sehr leicht nachweisen, wenn man einen Tropfen chemisch reiner Asparagin-Lösung auf einen Objectträger bringt, ein Deckgläschen darüber legt, absoluten Alkohol hinzufügt und nun langsam verdunsten lässt. Es treten uns alsdann unterm Mikroskope deutlich ausgebildete rhombische Tafeln mit dem Winkel von 129° 18' entgegen. Eine weitere Bestätigung für die Richtigkeit dieser Nachweisungsmethode der beiden fraglichen Verbindungen sprach sich in der Thatsache aus, dass Diphenylamin in concentrirter Schwefelsäure gelöst mit Rhomben, von denen ein Winkel ca. 130° betrug, keine Färbung hervorbrachte Dagegen wurden Krystalle, die man nach der Winkelmessung für Salpeter hielt, von genanntem Reagens mit tief blauer Farbe aufgelöst. Dies steht aber mit dem chemischen Verhalten des Asparagins einerseits und des Salpeters andererseits zu jener Lösung in völligem Einklang. Auch die BORODIN'sche Lösungsmethode, die weiter unten beschrieben werden soll, ergab, dass durch die Winkelmessung sichere Resultate erzielt wurden.

Wenn die ausgeschiedenen Krystalle sehr klein und sehr zerstreut waren, so dass die Winkel sehr schwierig und ungenau hätten gemessen werden können, so setzte ich zum Präparate einige Tropfen kalten destillirten Wassers, welches ich bei gewöhnlicher Zimmertemperatur verdunsten liess. Durch diese Umkrystallisation ist es mir einige Male gelungen, Krystalle zu erzielen, die den mikrokrystallographischen Nachweis ermöglichten.

Ausser dieser krystallographischen Bestimmung wurde ferner die von BORODIN eingeführte Lösungsmethode in Anwendung gebracht. Dieselbe beruht darauf, dass ausgeschiedene Asparagin-Krystalle bei Zusatz einer concentrirten Asparagin-Lösung unlöslich zurückbleiben und sich erst dann auflösen, wenn man einige Tropfen Wassers hinzufügt. Der etwa anwesende Kalisalpeter und andere in Wasser lösliche Substanzen lösen sich dagegen in einer concentrirten Asparagin-Lösung leicht auf. Wendet man nun, wie BORODIN vorschlägt, eine im Erkalten

begriffene Asparagin-Lösung an, so kann man mit Leichtigkeit das Amid vom Salpeter trennen. Das von mir eingeschlagene Verfahren war folgendes: Das mit Krystallen versehene Deckglas wurde vom Objectträger getrennt und beide für sich allein untersucht. Ueber die mit Krystallen bedeckte Fläche des Objectträgers wurde ein neues reines Deckglas gelegt, und nun fixirte man einige von den fraglichen Krystallen unter dem Mikroskope. Alsdann liess man einige Tropfen einer concentrirten Asparagin-Lösung langsam hinzutreten. Löste sich der Krystall nicht auf, aber auf Zusatz weniger Tropfen destillirten Wassers, so war kein Zweifel mehr vorhanden, dass derselbe aus Asparagin bestand. Entsprechend verfuhr man mit dem abgehobenen Deckglase.

Während HARTIG und PFEFFER die Krystalle mit gewöhnlichem Lichte unterm Mikroskope prüften, wandte BORODIN polarisirtes Licht an. Es erschwert hier die Anwesenheit von isotropen Krystallen nicht den Nachweis unseres Amids, und ferner treten bei gekreuzten Nicols die Krystalle deutlicher hervor. Dies erreicht man noch besser, wenn man, wie ich es bei meinen Untersuchungen gethan habe, bei Anwendung von parallel auffallendem, linear polarisirtem Lichte ein Gypsblättchen einschaltet, das bei gekreuzten Nicols die Interferenzfarbe Roth I. Ordnung giebt. Auf diese Weise kann man selbst die kleinsten Krystalle vermöge ihrer von der des Gypsblättchens abweichenden Färbung erkennen.

Den beschriebenen mikrochemischen Nachweis habe ich auf seine Zuverlässigkeit geprüft. Ich habe stets in einem Gemenge von Asparagin- und Salpeter-Krystallen, das ich erhielt, indem ich einige Tropfen einer Asparagin- und Salpeterlösung auf einem Objectträger verdunsten liess, mit Hülfe des krystallographischen Nachweises und der BORODIN'schen Lösungsmethode die Krystalle in ihrer chemischen Zusammensetzung erkennen können. Von der Richtigkeit der von mir mehrmals wiederholten Prüfungen konnte ich mich auch durch die Diphenylamin-Reaction überzeugen.

## Untersuchungen.

### I. Ist das durch Lichtabschluss in allen höheren Pflanzen hervorgerufene Asparagin ein Nebenproduct des Stoffwechsels?

Um die aufgeworfene Frage zu beantworten, wurden anfangs abgeschnittene Pflanzentheile zu Versuchen verwendet, wie es auch BORODIN bei seinen Untersuchungen meistens gethan hatte. Hierbei stellte sich aber heraus, dass dieselben in vielen Fällen nicht genügende Zeit lang vollkommen lebensfähig und gesund blieben. Ferner liess es sich nicht immer mit voller Sicherheit entscheiden, ob die betreffenden Pflanzentheile, auch wenn sie äusserlich noch vollkommen frisch aussahen, bereits im ersten Stadium des Absterbens sich befanden. Das eventuell beobachtete Asparagin konnte daher lediglich der beim Absterben eintretenden Eiweisszersetzung seine Entstehung verdanken. Auch konnte es nicht vermieden werden, dass sich Pilze einstellten, obwohl die Gefässe, in welche die Pflanzentheile gebracht wurden, vorher mit concentrirter Salzsäure ausgewaschen worden waren. Diese Uebelstände veranlassten mich mit ganzen, unversehrten Gewächsen Experimente anzustellen, welche auch mit sehr wenigen Ausnahmen gut gelangen. Die verwendeten Pflanzen waren im Freien gezogen, und ihre Grösse liess annehmen, dass die Reservestoffe des Samens bereits verbraucht waren.

Die unversehrten Gewächse wurden stets auf Asparagin geprüft, bevor sie zu Versuchen herangezogen wurden. Erzielte ich hierbei ein negatives Resultat — was bei allen verwendeten Pflanzen der Fall war —, so kamen dieselben einige Zeit ins Dunkle. Wenn in denselben nun auf oben beschriebene Weise Asparagin nachgewiesen werden konnte, so wurden sie dem Lichte wieder mehrere Tage ausgesetzt, und dann den mit positivem Resultate auf Asparagin geprüften genau entsprechende Theile nachuntersucht. Anfangs war eine quantitative Bestimmung des wieder verarbeiteten Asparagins in Aussicht genommen. Dieselbe wurde aber unnöthig, da alles gebildete Amid auch wieder im Stoffwechsel Verwendung fand.

Die Versuche wurden mit Dahlia variabilis, Nicotiana Tabacum, Nicotiana latifolia, Lantana alba, Coleus hybrida, Heliotro-

pium peruvianum, Pentas carnea, Centrosolenia bullata, Zea Mais und Pteris angestellt, deren nähere Beschreibung später erfolgen soll.

Das Resultat, welches alle diese Experimente ergaben, lässt sich wie folgt aussprechen:

„Alle Pflanzen, auch die unter normalen Bedingungen kein Asparagin finden lassen, zeigen beim Verdunkeln in ihren wachsenden Theilen das fragliche Amid. Bei Lichtgegenwart und Anwesenheit von kohlensäurehaltiger Luft wird es in der Pflanze weiter verarbeitet (Versuch 1—9), so lange als das normale Wachsthum nicht merklich geschädigt worden ist (Versuch 10). In ausgewachsenen Organen konnte Asparagin nur ausnahmsweise und dann nur in Spuren nachgewiesen werden (Versuch 6)".

Ebenso wie die Phanerogamen scheinen sich auch, was die Bildung und Verarbeitung des Asparagins anbetrifft, die niederen Chlorophyll führenden Pflanzen zu verhalten; wenigstens habe ich bei Pteris (Versuch 9) ebenfalls das obige Resultat erzielt.

Diese Versuche bestätigen auf der einen Seite die BORODIN-sche Behauptung, dass alle Pflanzen der Asparagin-Anhäufung fähig sind, andererseits beweisen sie, dass das einmal durch Verdunkelung gebildete Amid keinen pathologischen Charakter trägt. Hierdurch ist uns aber erst die Möglichkeit geboten, die BORODIN-sche Vermuthung, nach welcher in allen Pflanzen unter normalen Umständen Asparagin-Bildung und Verarbeitung neben einander stattfinden, als richtig anzuerkennen.

## II. Finden überhaupt Beziehungen zwischen der Asparagin-Bildung resp. Verarbeitung und dem Mangel resp. der Anwesenheit von Kohlehydraten statt?

Bei den Versuchen ad (I) prüfte ich einige Male, ob thatsächlich ein Mangel an Kohlehydraten die Ursache der Asparagin-Anhäufung sei. Ich untersuchte eine vollständig etiolirte Dahlia variabilis auf Glykose und fand hier trotz einer bedeutenden Menge Asparagins die FEHLING'sche Lösung reducirende Kohlehydrate. Dasselbe Resultat ergab sich bei Nicotiana Tabacum und Nicotiana latifolia, bei Pflanzen, die deutlich eine Asparagin-Ansammlung constatiren liessen. Dass demnach die untersuchten

Theile nicht vom Zustrom der plastischen stickstofffreien Stoffe, was man nach PFEFFER und BORODIN annehmen müsste, ausgeschlossen waren, liegt klar zu Tage. Die Erklärung der beiden Autoren erscheint hier deshalb sehr zweifelhaft. Es lässt sich jedoch zu Gunsten der Ansicht der beiden Forscher der noch mögliche Einwand machen, dass nur auf Kosten einiger in der Pflanze vorkommenden Kohlehydrate die Regeneration des Asparagins zu Eiweiss geschehe, und dass dieselben in den vorliegenden Fällen schon im Stoffwechsel Verwendung gefunden hatten. Durch folgende Versuche suchte ich nur ein entscheidendes Resultat zu erzielen, ob die Kohlehydrate überhaupt, nur die löslichen, oder von diesen wiederum ganz bestimmte Arten, die Asparagin-Anhäufung verhinderten.

Wenn die Pflanze die Reservekohlehydrate des Samens aufgebraucht hat, so verdanken bekanntlich alle Stoffe dieser Art, die sich im pflanzlichen Organismus vorfinden, der Kohlensäureassimilation ihre Entstehung. Da wir im normalen Zustande bei fast allen Pflanzen nach der Keimungsperiode kein Asparagin nachweisen können, so müssen wir nach PFEFFER's und BORODIN's Theorie den assimilirten Stoffen alle die Eigenschaften zuschreiben, die sie zur Regeneration des Asparagins zu Eiweiss nöthig haben. Bedenkt man, dass die ausgewachsenen Organe ihre Assimilationsproducte den jungen Theilen zuführen, so wird man auch zugeben, dass in letzteren nie ein Mangel an stickstofffreiem Material eintritt, so lange die älteren Organe assimiliren können. Und weil den jungen Theilen immer neue Quantitäten von Assimilationsproducten zuströmen, so müssten dieselben nach der Ansicht der beiden erwähnten Forscher selbst bei Lichtabschluss die Stoffe enthalten, die eine Asparaginumwandlung bewerkstelligen, oder es dürften junge Theile nie Asparagin bilden, wenn man dieselben in Verbindung mit der ganzen Pflanze lässt und verdunkelt, während man die älteren Theile dem Lichte aussetzt. Diese Folgerung, welche sich nothwendigerweise aus PFEFFER's und BORODIN's Annahme ergiebt, wird aber durch das Experiment nicht bestätigt. Es häuft sich nämlich in den wachsenden Organen einer Pflanze Asparagin an, wenn man dieselbe nur in diesen Theilen verdunkelt. Hieraus folgt sowohl, dass die Asparagin-Bildung unabhängig von einem Mangel an Kohlehydraten

vor sich geht, als auch, dass das einmal gebildete Amid durch die Anwesenheit von Assimilationsproducten nicht in neue Verbindungen übergeführt wird.

Diese Behauptung habe ich durch verschiedene, auf folgende Weise angestellte Versuche bestätigen können:

Junge Theile, die in Verbindung mit der ganzen, unter normalen Verhältnissen vegetirenden Pflanze gelassen wurden, schloss man in Düten aus schwarzem Papier ein. Am Blattstiele resp. Stengel wurden dieselben eng zusammengezogen, so dass von unten kein Licht zu den fraglichen Organen hinzutreten konnte.

Hierdurch wurde völlige Dunkelheit erzielt. Dieselben Manipulationen wurden auch mit ausgewachsenen Blättern nebst Blattstielen angestellt. Wenn nun die Pflanze in den verdunkelten Theilen Asparagin angehäuft hatte, so wurden diese Theile weiter zur Untersuchung der Frage verwendet, ob das sich hierbei gebildete Amid ein Nebenproduct des Stoffwechsels sei.

Folgende Pflanzen wurden zu Versuchen herangezogen:

Dahlia variabilis, Nicotiana Tabacum, Nicotiana latifolia, Coleus hybrida, Asclepias spec., Salvia fulgens, Helmia convolvulacea, Achyranthes Verschaffeltii, Pentas carnea, Scutellaria Mocciniana, Centradenia floribunda, Alocasia makrorhiza, Sanchezia glaukophylla und Fuchsia spec.

Das Verhalten der einzelnen Gewächse soll erst später beschrieben werden.

Das erzielte Resultat, welches zugleich die oben aufgestellte Behauptung als richtig erweist, nach welcher das durch Verdunkelung angehäufte Asparagin nicht als ein Nebenproduct des Stoffwechsels aufzufassen ist, lässt sich wie folgt aussprechen:

„Verdunkelt man junge Pflanzentheile, die in Verbindung mit der Mutterpflanze bleiben, und lässt die alten Organe ungestört assimiliren, so findet in ersteren eine Asparagin-Anhäufung statt. Dasselbe wird bei Lichtzutritt unter normalen Bedingungen im Stoffwechsel wieder verbraucht (Versuch 11—23), so lange als durch die Lichtentziehung das normale Wachsthum nicht merklich geschädigt wird (Versuch 24). Ausgewachsene Organe lassen nur ausnahmsweise Asparagin finden, wenn man sie längere Zeit im Dunkeln hält (Versuch 19).

### III. Durch welche Processe wird in der Pflanze einerseits eine Asparagin-Verarbeitung herbeigeführt, und wodurch wird andererseits eine Anhäufung desselben verursacht?

Da durch obige Versuche bestätigt ist, dass die Kohlehydrate an und für sich keinen Einfluss auf die Verarbeitung und Anhäufung des Asparagins haben, so liegt die Vermuthung nahe, dem Lichte doch, wie es BOUSSINGAULT wollte, eine directe Betheiligung bei der Asparagin-Verwendung zu Eiweiss zuzuschreiben. Dies hat aber PFEFFER für die Lupinen widerlegt, und ich konnte dasselbe für Dahlia variabilis bestätigen. Eine im Dunkeln ungefähr 1 Fuss hoch gewachsene Dahlia variabilis wurde unter eine Glasglocke gebracht, die luftdicht auf einer Glasplatte aufsass. Die erstere hatte oben am Scheitel und unten in der Nähe des Randes einen Tubulus, in welche einfach durchbohrte Korke mit einer Glasröhre eingepfropft waren. Durch einen Gasometer wurde nun von oben herein durch Kalilauge von Kohlensäure gereinigte Luft zugeführt. Unter der Glocke neben dem Blumentopfe war ein Gefäss mit Kalilauge, und ebenso endigte die Glasröhre des unteren Tubulus wieder in Kalilauge, so dass der Pflanze unter der Glocke keine Spur von Kohlensäure geboten war. Die Pflanze ergrünte, liess aber bis an ihr Lebensende Asparagin im Zellsafte finden. Auch hierin liegt ein Beweis für die Behauptung, dass dem Lichte kein directer Einfluss auf die Verwendung des Asparagins im Stoffwechsel zukommt.

Auf Grund der von mir oben gefundenen Thatsache, dass die Kohlehydrate die Weiterverarbeitung des Asparagins im pflanzlichen Organismus nicht bewirken — was ja von vornherein der Indifferentismus dieser beiden Verbindungen vermuthen lässt —, glaubte ich die Regeneration des Asparagins zu Eiweissstoffen auf energische Processe zurückführen zu müssen. Welcher Process dies ist, lässt sich aus den zur Zeit vorliegenden Beobachtungen folgern. Wir wissen, dass in allen Pflanzen angehäuftes Asparagin wieder im Stoffwechsel verbraucht wird, wenn sie unter normalen Bedingungen wachsen können. Alsdann ist ihnen aber Licht und kohlensäurehaltige atmosphärische Luft geboten, so dass sie assimiliren können. Geben wir dagegen den Pflanzen keine Möglichkeit zur Assimilationsthätigkeit, wenn wir

ihnen unter sonst normalen Bedingungen das Licht oder die Kohlensäure entziehen, so findet eine Verarbeitung des angehäuften Amids nicht statt. Daher schien mir auch die Kohlensäureassimilation derjenige Process zu sein, durch welchen das gebildete Asparagin in neue Verbindungen übergeführt würde. Dass diese Folgerung keine irrige gewesen ist, zeigen die nachstehenden Untersuchungen.

Im Wachsthum befindliche, gesunde und unversehrte Gewächse wurden zu Experimenten herangezogen, nachdem man das Fehlen von Asparagin in denselben constatirt hatte. Junge und alte Organe liess man in kohlensäurefreier Luft mehrere Tage wachsen. Man erreichte dies auf folgende Weise: Die zu Versuchen herangezogenen Theile wurden in Glascylinder von ca. 3000 *ccm* Rauminhalt gebracht, so dass sie jedoch in Verbindung mit der ganzen Pflanze blieben. Die Gefässe enthielten ca. 75 *ccm* concentrirter Kalilauge, durch welche die Kohlensäureabsorption der darin enthaltenen Luft bezweckt wurde. Um keine weitere mit Kohlensäure geschwängerte Luft den zu Versuchen verwendeten Theilen hinzutreten zu lassen, wurden die Gefässe mit durchbohrten Korken verschlossen, in welche Durchbohrung der Stengel resp. Stiel zu liegen kam. Diese wurde alsdann durch Fett luftdicht verschlossen. Um der Gefahr zu entgehen, dass durch Athmung sämmtlicher im Gefässraume vorhandene Sauerstoff verbraucht würde, lüftete man täglich das Gefäss einige Minuten, und stellte alsdann einen luftdichten Verschluss wieder her. Auf diese Weise konnten die in Verbindung mit der ganzen, unversehrten Pflanze untersuchten Organe ungestört athmen, dagegen war es ihnen unmöglich zu assimiliren. Ausdrücklich sei noch erwähnt, dass die untersuchten Theile immer ein gesundes Aussehen beibehielten.

Experimentirt habe ich mit:

Dahlia variabilis, Nicotiana Tabacum, Nicotiana latifolia, Kennedya Baumannii, Ipomaea digitata, Dioscorea sinuata, Cissus Roylei, Salvia fulgens, Pentas carnea, Fuchsia spec., Coleus hybrida, Tradescantia zebrina und Heteropsis ovata.

Die Beschreibung der einzelnen Versuche soll erst später erfolgen.

Alle diese Experimente zeigten, dass sich in den wachsenden Theilen Asparagin ansammelt, wenn dieselben in einer von Kohlensäure freien Luft gehalten werden. Ausgewachsene Organe liessen unter denselben Umständen kein Asparagin finden.

Aus dem erzielten Resultate erfahren wir, wodurch sowohl eine Verarbeitung als auch eine Anhäufung des Asparagins in der Pflanze hervorgerufen wird. Das Licht spielt hierbei ebensowenig eine Rolle wie die Anwesenheit oder der Mangel von Kohlehydraten. Und selbst wenn der Pflanze Licht und Glykose zu Gebote stehen, geht eine Asparagin-Ansammlung vor sich, wie wenn erstere in kohlensäurehaltiger Luft bei Anwesenheit von Glykose, jedoch bei Lichtabschluss, wächst. Ist es aber der Pflanze möglich zu assimiliren, so sehen wir nicht nur nicht Asparagin auftreten, sondern wir finden sogar, dass das gebildete Amid wieder im Stoffwechsel Verwendung findet. Es wird demnach das Asparagin durch den Assimilationsprocess in der Pflanze verarbeitet, während es sich in derselben anhäuft, wenn genannter Process nicht vor sich gehen kann. Dass diese Erklärung für das Auftreten und Verschwinden des Amids richtig ist, lehren nicht nur die angestellten Versuche, sondern sie lässt sich auch mit den von verschiedenen Forschern vorgenommenen Experimenten leicht in Einklang bringen.

Wenn BORODIN abgeschnittene Pflanzentheile ins Dunkele brachte, so war nicht ein eintretender Mangel an stickstofffreiem Material die Ursache der Asparagin-Anhäufung, sondern einzig und allein die Entziehung der assimilatorischen Thätigkeit. Daher kommt es auch, dass in den nicht assimilirenden hypokotylen Theilen der Lupinenkeimlinge Asparagin gefunden wird; schreitet das Wachsthum fort, so bilden sich Assimilationsorgane, und hier wird durch den Process selbst die weitere Verwendung des Amids im Stoffwechsel eingeleitet. In dem Masse, als die Pflanze assimilirt und als das gebildete Asparagin in die assimilirenden Gewebe gelangt, verschwindet unser Stoff. Die chlorophyllführenden Pflanzentheile lassen deshalb kein Asparagin finden, weil es eben gebildet, sogleich neue durch die Assimilation hervorgerufene chemische Processe eingeht.

Durch das erzielte Resultat lässt sich auch leicht das Vor-

kommen von Asparagin neben Zuckersubstanzen in Runkelrüben erklären, was bei Aufrechthaltung der BORODIN'schen Theorie nur sehr schwer der Fall sein dürfte. Die Anwesenheit von Kohlehydraten hat eben keinen Einfluss auf die Verarbeitung des Asparagins, sondern nur der Assimilationsprocess. Da aber den Runkelrüben assimilirende Organe fehlen, so kann auch das fragliche Amid vorgefunden werden.

Ist das Ergebniss der obigen Versuche schon deshalb von Interesse, als es den wahren Grund der Asparagin-Anhäufung in Pflanzen erkennen lässt, so gewinnt es noch dadurch an Bedeutung, dass wir eine bis jetzt unbekannte Function der Assimilation erfahren. Nahm man bis jetzt in der chemischen Pflanzenphysiologie allgemein an, dass durch den Assimilationsprocess die zum Wachsthume und zur Athmung nöthigen Kohlehydrate gebildet würden, so ist man durch obiges Resultat nothwendigerweise gezwungen, ihr eine neue Function, die Verarbeitung des Asparagins zu Eiweiss, zuzuschreiben. Dies spricht aber sehr für die in der chemischen Physiologie verbreitete, jedoch noch nicht mit Gewissheit bewiesene Annahme, dass in den assimilirenden Organen die Eiweissbildung vor sich gehe.

## IV. Aus welchen in der Pflanze vorkommenden Verbindungen wird das Asparagin gebildet?

Wenn ich durch obige Versuche die Frage beantworten konnte, welche Processe einerseits eine Asparagin-Verarbeitung und andererseits eine Anhäufung desselben bedingen, so sei es noch erlaubt, Einiges über das Problem, welchen in der Pflanze vorkommenden Verbindungen das Asparagin seine Entstehung verdankt, zu bemerken.

Ob das fragliche Amid in den Keimpflanzen durch die Zersetzung der Reserveproteinstoffe gebildet wird, will ich dahin gestellt sein lassen. Doch ist hierbei eigenthümlich, dass es die übrigen Spaltungsproducte in Rücksicht auf das Verhältniss, in welchem sie uns bei der künstlichen Zersetzung entgegentreten, weit an Menge übertrifft[1]). Dagegen scheint mir die Entstehungsweise des Asparagins nach BORODIN aus dem lebensthätigen Protoplasma dem Principe der Arbeitsersparniss zu widersprechen.

1) E. SCHULZE. Landwirthsch. Jahrb. Bd. 9, 1880, pag. 700 u. d. f.

Warum soll sich das einmal fertig gebildete Protoplasma wieder zersetzen, um dann wieder regenerirt zu werden? Viel wahrscheinlicher ist es, dass das Asparagin in der Pflanze den assimilirten Kohlehydraten und den anorganischen Stickstoff-Verbindungen seine Entstehung verdankt, um dann durch den Assimilationsprozess weiter verarbeitet zu werden. Ich will zunächst darzulegen versuchen, dass eine solche Entstehung des Asparagins in der Pflanze möglich ist, und dann prüfen, ob eine derartige Bildungsweise sich mit den vorliegenden Beobachtungen in Einklang bringen lässt.

Die Chemie lehrt, dass bei der Gährung des Zuckers und der Apfelsäure Bernsteinsäure gebildet wird. Gährungsfähiger Zucker und Apfelsäure sind aber im Pflanzenreiche weit verbreitet, und ebeso geht in der Pflanze ein der Gährung sehr ähnlicher Process, die Athmung, vor sich. Durch diese werden zunächst die Kohlehydrate in Alkohol übergeführt, und ich glaube, dass sich hier ebenso Bernsteinsäure, wie bei der Gährung, bildet, wo ja auch aus dem Zucker Alkohol entsteht. Bei Anwesenheit von stickstoffhaltigen anorganischen Verbindungen ist daher die Möglichkeit einer Asparagin-Bildung nicht ausgeschlossen. Ferner kann direct aus der in der Pflanze anwesenden Apfelsäure und den vorhandenen anorganischen Stickstoff - Verbindungen Asparagin hervorgehen. Auch in diesem Falle würden wir die Kohlehydrate als nothwendiges Material zur Bildung des Amids anzusprechen haben, da diesen die genannte Säure ihre Entstehung im pflanzlichen Organismus verdankt. In beiden Fällen würden demnach gerade Kohlehydrate zur Asparagin-Anhäufung nöthig sein. So entgegengesetzt diese Annahme der BORODIN'schen Ansicht ist, so leicht lässt sie sich mit den vorliegenden Beobachtungen in Einklang bringen.

Während man mit BORODIN's Theorie schwerlich die Thatsache erklären kann, dass gerade in den jüngeren, an Kohlehydraten reichen Organen sich beim Verdunkeln Asparagin einstellt, dagegen in den an Assimilationsproducten armen, ausgewachsenen Theilen selten, und dann nur spärlich vorgefunden werden kann, so lässt sich diese Erscheinung mit der oben gegebenen Erklärung leicht in Einklang bringen. Mag man nun das Asparagin als die Verbindung ansehen, in welcher uns die

bei der Athmung entstehende Bernsteinsäure in der Pflanze entgegentritt, oder mag das Amid direct aus der Apfelsäure entstanden sein, immer sind zu seiner Bildung Kohlehydrate nöthig. Diese sind in den jungen Theilen vorhanden, und deshalb kann sich in denselben Asparagin anhäufen. In alten Organen fehlen Assimilationsproducte, weshalb auch die Möglichkeit einer Asparagin-Bildung ausgeschlossen ist.

Wenn ferner E. SCHULZE[1]) die von BORODIN aufgestellte Behauptung bestätigen konnte, dass eine Asparagin-Anhäufung gleichzeitig mit einem Verschwinden von stickstofffreiem Nährmaterial vor sich geht, so spricht diese Thatsache deutlich für die Annahme, dass die Kohlehydrate zur Asparagin-Bildung das nöthige Material liefern. Auf Kosten der Kohlehydrate kann sich nur Apfel- und Bernsteinsäure, und bei Anwesenheit von anorganischen Stickstoff-Verbindungen Asparagin bilden. Je mehr sich nun lezteres anhäuft, desto mehr müssen Kohlehydrate verbraucht werden, bis sie schliesslich nicht mehr nachzuweisen sind.

## Beschreibung der einzelnen Versuche.

### Versuche ad I.

**1. Dahlia variabilis.** Eine ca. $\frac{1}{2}$ *m* hohe Dahlia variabilis wurde am 5. Juni auf Asparagin untersucht. Ein am unteren Theile des Stengels sitzendes Blatt zeigte in seinem Stiele deutlich $KNO_3$-Krystalle, während Asparagin vollständig fehlte. Alle Präparate, die von diesem Stiele hergestellt waren, zeigten bei Zusatz von Diphenylamin eine dunkelblaue Färbung. Alle Krystalle lösten sich ausgezieheнet in warmer concentrirter Asparagin-Lösung, so dass die Abwesenheit unseres Amids bestätigt war. Aus dem Blatte konnten nur wenige Krystalle durch Zusatz von absolutem Alkohol erhalten werden. Asparagin fehlte auch hier gänzlich, während durch die Diphenylaminreaction Spuren von $KNO_3$ nachgewiesen wurden. Die jungen Blätter an der Stengelspitze liessen weder Salpeter noch Asparagin finden, während ihre Stiele das Kalinitrat reichlich gelöst im Zellsafte

1) l. c. pag. 732.

enthielten. Zwei andere Exemplare von Dahlia variabilis, welche in dieser Weise geprüft wurden, zeigten ebenfalls das oben beschriebene Verhalten. Dieselben wurden nun 8 Tage lang im Dunkeln gehalten; alsdann ergab die mikrochemische Analyse Folgendes:

Verschiedene alte Blätter zeigten Salpetergehalt, dagegen waren sie asparaginfrei. Ebenso verhielten sich die zugehörigen Stiele, nur dass der Salpeter hier in bedeutender Menge vorhanden war. Die jungen Theile, überhaupt diejenigen Organe, welche während der 8 Tage gewachsen waren, liessen in ihrem Zellsafte eine Menge Asparagin finden, während Salpeter spärlicher vorkam. Es fanden sich die für das Asparagin so charakteristischen rhombischen Tafeln mit dem Winkel von ca. 130° vor. Im Stengel nahm von unten nach der Spitze zu der $KNO_3$-Gehalt ab, während man nach oben kommend Asparagin fand, das sich im unteren Theile nicht zeigte. Nun kam diese Dahlia wieder ins Helle. Nach 10 Tagen wurde die junge Spitze auf Asparagin nachuntersucht; man erzielte hierbei ein negatives Resultat. Der junge Stengel liess, wie auch die Blättchen nebst den Blattstielen nur Salpeter finden, während das Amid vollständig verschwunden war.

Mit einem anderen Exemplare von Dahlia variabilis habe ich diesen Versuch zweimal wiederholt. Dasselbe kam asparaginfrei ins Dunkle und zeigte nach einer Woche in den wachsenden Theilen deutlich Asparagin. Als diese Pflanze dann eine Woche lang dem Lichte ausgesetzt wurde, konnte kein Asparagin mehr gefunden werden. Dasselbe stellte sich bei der abermaligen Verfinsterung wieder ein und verschwand, als das fragliche Gewächs wieder ins Helle gebracht wurde.

2. **Nicotiana Tabacum**. Das zum Versuche herangezogene Exemplar zeigte bei seiner Voruntersuchung in den jungen und alten Blättern Spuren von Salpeter, der in den Blattansätzen am Stengel in Menge nachzuweisen war. Asparagin wurde nirgends gefunden. Am 2. Juli wurde die Tabakpflanze ins Dunkle gebracht und hier 9 Tage zurückgelassen. Die Untersuchung der wachsenden Theile konnte eine Anhäufung von Asparagin constatiren, das den alten, ausgewachsenen Organen vollständig fehlte. Besonders deutliche Asparaginkrystalle fanden sich in

der Stengelspitze vor, während hier fast keine Blaufärbung mit Diphenylaminlösung eintrat. Als diese Pflanze nun ins Helle gebracht wurde, und ich nach Verlauf von 8 Tagen die wachsenden Theile auf Asparagin prüfte, erzielte ich ein negatives Resultat. Die mikrochemische Analyse der jungen und alten Organe zeigte, dass sie sich in Bezug auf Asparagin und Salpeter genau wie bei der Voruntersuchung verhielten.

3. **Nicotiana latifolia**. Bei dieser Pflanze konnte ich schon nach 5 Tagen in den lebhaft wachsenden Organen deutlich Asparagin erkennen, während es in den alten selbst nach einer 8tägigen Verdunkelung nicht zu finden war. Salpeter konnte überall nachgewiesen werden. Nun kam die Pflanze wieder ins Helle, und es konnte 8 Tage später kein Asparagin mehr nachgewiesen werden.

4. **Lantana alba** und **Pentas carnea**. Diese Pflanzen zeigten nach 8 tägigem Wachsen bei Lichtabschluss in den jüngeren Theilen gar kein und in den jüngsten nur Spuren von Asparagin. Nach einem 14 Tage langen Verweilen im Finstern liessen sie jedoch in allen wachsenden Organen Asparagin nachweisen. Die Krystalle waren sehr klein, weshalb hier die BORODIN'sche Lösungsmethode sehr zu statten kam. Als die beiden Gewächse wieder 8 Tage im Hellen gehalten wurden, fand ich bei der Nachuntersuchung in denselben noch Spuren von Asparagin, welches bei der nach 8 Tagen wiederholten Prüfung nicht mehr anwesend war.

5. **Coleus hybrida**. Bei der Voruntersuchung zeigten die ausgewachsenen Blätter weder Asparagin noch Salpeter, der dagegen in den zugehörigen Stielen in reichlicher Menge nachzuweisen war. Die jungen Blätter nebst den Stielen zeigten dasselbe Verhalten. Als fraglicher Coleus vom 8. bis 15. Juli im Dunkeln aufbewahrt worden war, konnte im Stiele eines ausgewachsenen Blattes wohl viele Salpeter-, dagegen keine Asparagin-Krystalle erkannt werden. Die ausgeschiedenen Krystalle eines Blatt-Präparates gaben mit Diphenylamin die Salpeterreaction und lösten sich sämmtlich in einer concentrirten Asparaginlösung auf. Anders verhielt sich ein junges Blättchen, in welchem nur Asparagin gefunden wurde. Im zugehörigen Stiele war wenig Salpeter neben wenig Asparagin vorhanden. Fraglicher Coleus

kam am 15. Juli ins Helle. Bei dessen Nachuntersuchung am 24. Juli ergab sich, dass die Pflanze alles Amid wieder verarbeitet hatte.

6 **Heliotropium peruvianum**. Bei der Voruntersuchung war Heliotropium peruvianum in allen Theilen asparaginfrei. Nach 9 tägiger Verdunkelung stellte sich in verschiedenen Organen das Amid ein (17. Juli). Während in allen bis jetzt verwendeten Pflanzen namentlich die jungen Theile sich durch Asparagin-Anhäufung auszeichneten, fand ich in diesem Gewächse hauptsächlich in den älteren Organen fraglichen Stoff. Asparagin konnte in einem älteren Blatte deutlich, wenn auch nur in geringer Menge, erkannt werden. Im Stielchen eines jungen Blattes konnte ich es ebenfalls nachweisen, während es im Blättchen selbst nicht zu finden war. In allen Theilen, die ich auf Asparagin prüfte, trat bei Zusatz von Diphenylaminlösung eine intensive Blaufärbung ein. Nach 3 Wochen, während welcher Heliotropium peruvianum dem Lichte ausgesetzt war, konnte zwar in den jungen Blattstielen Salpeter, nicht aber mehr Asparagin vorgefunden werden. Auch gelang es mir nicht, in den am 17. Juli untersuchten älteren Blättern das Amid nachzuweisen.

7. **Centrosolenia bullata**. Centrosolenia bullata verhielt sich ähnlich wie Lantana alba. Hier konnte ich auch erst nach 14 tägiger Verdunkelung Asparagin finden. Es war dann in den jungen Blättern und Stielen vorhanden. Dagegen zeigte dieses Versuchsobject in allen Theilen einen bedeutenden Salpeter-Gehalt. Nachdem dann Centrosolenia 14 Tage im Hellen gewachsen war, konnte kein Asparagin mehr nachgewiesen werden.

8. **Zea-Mais**. Ungefähr 5 *dm* hohe Mais-Pflanzen wurden am 1. August untersucht, wobei sie sich vollständig asparaginfrei erwiesen. Als dieselben am 13. August nachgeprüft wurden, bis zu welchem Tage sie im Dunkeln verweilt hatten, wurde im Stengel fast gar kein Asparagin, wohl aber eine Menge Salpeterkrystalle gefunden. Das Blatt zeigte dagegen eine bedeutende Anzahl schön ausgebildeter Asparagin-Rhomben. Dieselben lösten sich nicht in concentrirter Asparaginlösung, und Dyphenylamin brachte in verschiedenen Präparaten eine kaum wahrnehmbare Blaufärbung hervor. Nur unterm Mikroskope konnten einige Krystalle gesehen werden, die sich mit blauer Farbe auflösten.

Am 5. September zeigte die Nachuntersuchung, dass alles Asparagin verarbeitet worden war.

9. **Pteris**. Bei der Voruntersuchung (2. Juli) konnte sowohl im Blattstiele, als im Fliederblättchen, kein Asparagin gefunden werden. Im Stiele liess sich deutlich Salpeter nachweisen, der in den Blättchen völlig fehlte. Im Dunkeln verweilte diese Pflanze bis 17. Juli. Alsdann konnte deutlich in den wachsenden Theilen Asparagin erkannt werden, obwohl es nur spärlich auftrat. Salpeter war ebenfalls vorhanden. Pteris wurde nun bis 30. Juli dem Lichte ausgesetzt, und wiederum in entsprechenden Theilen zu denjenigen, die am 17. Juli das Amid aufwiesen, geprüft. Hierbei ergab sich ein negatives Resultat.

10. **Dahlia variabilis**. Ich habe eine Dahlia variabilis zweimal hintereinander verdunkelt und wieder ins Helle gebracht. Jedesmal zeigte sie ein den übrigen Pflanzen analoges Verhalten. Als ich jedoch die Verdunkelung das dritte Mal vornahm und die Pflanze wieder ins Helle brachte, war nach 6 wöchentlichem Wachsthume unter normalen Bedingungen noch Asparagin zu finden. Ein anderes Exemplar von Dahlia variabilis, das Ende Juli eingepflanzt und im Dunkeln gezogen wurde, brachte ich Mitte September ins Helle, wo sich die Blätter sehr rudimentär ausbildeten. Eine am 27. November vorgenommene Prüfung auf Asparagin erzielte ein positives Resultat, so dass die Behauptung, nach welcher das durch Lichtabschluss angesammelte Asparagin nur bei normalem Wachsthume wieder verarbeitet wird, vollständig als bewiesen anzusehen ist.

### Veruche ad II.

11. **Dahlia variabilis**. Eine ungefähr $\frac{3}{4}$ *m* hohe Dahlia variabilis, die ungefähr 6 vollständig ausgewachsene und an der Spitze 2—3 *cm* lange junge Blätter besass, wurde in letzteren am 13. Juli verdunkelt. Am 21. Juli zeigte der Stiel eines solchen eine beträchtliche Anzahl schöner Asparagin-Rhomben neben wenig Salpeterkrystallen. Das Blättchen liess nur Asparagin finden, während Diphenylamin keine Blaufärbung hervorrief. Von der nämlichen Dahlia wurde am 14. Juli ein altes Blatt mit Stiel in einem schwarzen Papiercylinder eingeschlossen, in welchem es bis 23. Juli verblieb. Es zeigte bei der an diesem Tage vor-

genommenen mikrochemischen Analyse folgendes Verhalten: die Stiel-Präparate liessen eine Menge Krystalle finden, welche sich sämmtlich bei Zusatz eines Tropfens concentrirter Asparaginlösung auflösten. Diphenylamin brachte eine intensive blaue Färbung hervor, so dass die Anwesenheit unseres Stoffes ausgeschlossen war. Im Blatte konnte ich ebenfalls nur $KNO_3$ nachweisen, wenn auch hier die Menge desselben bedeutend geringer, als im Stiele, war. Das junge Blättchen nebst Stiel, die sich beide als asparaginhaltig ergaben, wurden am 22. Juli wieder dem Lichte unter sonst normalen Bedingungen ausgesetzt und am 5. August nachuntersucht. Alsdann konnte kein Asparagin mehr gefunden werden. Der Salpeter trat nur im Stiele in Spuren auf; im Blatte dagegen fehlte er gänzlich. Dasselbe Resultat lieferten auch junge Blätter, die fortwährend unter normalen Verhältnissen gewachsen waren.

Mit Dahlia variabilis, das zu Versuchen sehr gut geeignet ist, habe ich diese Experimente wiederholt angestellt und stets das nämliche Resultat erhalten. Auch

12. **Nicotiana Tabacum** zeigte deutlich, dass junge Theile beim Verdunkeln Asparagin bilden, selbst wenn ihnen die Assimilationsproducte der alten Organe zugeleitet werden. Die untersuchte Tabakpflanze besass 2 Paar vollkommen ausgewachsene Blätter. An der Spitze befanden sich 2—3 *cm* lange Blättchen. Der Spitze wurde nebst zweien solcher Blättchen das Licht entzogen, und so liess ich sie vom 18. Juli bis 30. Juli im Freien wachsen. Bei der Nachuntersuchung am 30. Juli konnte ich im jungen Stengel und in einem der zum Experimente herangezogenen Blättchen deutlich die Anwesenheit von Asparagin constatiren. Im Stengel war ausserdem Salpeter vorhanden. Das andere Blättchen wurde nun dem Lichte wieder ausgesetzt und am 13. August auf Asparagin geprüft. Es zeigte sich, dass das am 30. Juli vorgefundene Amid wieder im Stoffwechsel verbraucht worden war, nur im Stengelstumpfe schienen noch Spuren von Asparagin zu sein. An dieser Tabakpflanze wurde am 14. August auch ein altes Blatt verdunkelt, das am 2. September jedoch kein Asparagin, wohl aber einen deutlichen Salpetergehalt erkennen liess.

13. Ganz ähnlich verhielt sich **Nicotiana latifolia,** in welcher Pflanze sich mir ein ausgezeichnetes Versuchsobject darbot.

14. **Salvia fulgens.** Am 30. Juli wurden die alten und jungen Theile untersucht. Ich konnte nur in den Blattstielen Salpeter nachweisen, während in den Blättern derselbe fehlte. Asparagin war nirgends vorhanden. Bis zum 6. August wurden je 2 junge und alte Organe im Dunkeln gehalten; die übrigen Blätter setzte man dem Lichte aus. Nach 8 tägiger Lichtentziehung sammelte sich sowohl im jungen Blatte als auch in dem zugehörigen Stiele deutlich Asparagin an. Im Blättchen konnte ich ebenfalls $KNO_3$-Krystalle constatiren, die im Stiele in Menge vorhanden waren. Im alten Blatte dagegen fand sich nur wenig Salpeter vor, und Asparagin fehlte vollständig. Dasselbe gilt vom zugehörigen Blattstiele, nur dass hier sehr viel $KNO_3$ gefunden wurde. Am 6. August kamen alle Theile der Salvia wieder ins Helle, und ich konnte am 5. September in den jungen seit 6. August lebhaft gewachsenen Blättern kein Asparagin mehr vorfinden.

15. **Helmia convolvulacea.** Ein junger Stengel, der am oberen Ende ein Paar junger Blättchen trug, wurde am 30. Juli verdunkelt und zeigte am 11. August bei seiner Nachprüfung Krystalle von Asparagin und Kalisalpeter, während in einem jungen Blättchen mit Stiel nur Asparagin zu finden war. Am 11. August wurde der verdunkelte Stengel wieder dem Lichte ausgesetzt. Ich prüfte am 5. September auf Asparagin und konnte hier dessen Abwesenheit constatiren. Im jungen Blättchen liessen sich keine Krystalle finden; während im zugehörigen Stiele wenig Salpeter nachgewiesen wurde.

16. **Asclepias spec.** Am 30. Juli fand ich in allen Theilen, auch in den fleischigen Blättern, einen bedeutenden Salpetergehalt. An diesem Tage wurden einige junge und alte Blätter mit den zugehörigen Stielen verdunkelt, welche bei der Nachuntersuchung am 6. August folgendes Verhalten zeigten: Das alte Blatt liess kein Asparagin, wohl aber eine reichliche Menge von Salpeter finden. Im zugehörigen Stielen waren neben viel $KNO_3$ Spuren von Asparagin anwesend. Das am 30. Juli verdunkelte junge Blatt hatte eine blassgrüne Farbe angenommen, und es fiel nicht schwer, unter den zahlreichen Salpeterkrystallen auch solche des Asparagins nachzuweisen. Im Stiele des Blättchens trat Asparagin nur in Spuren auf. Vom 11. August bis 5. September kam

Asclepias spec. ins Helle und wuchs hier unter normalen Verhältnissen. Die jungen Blätter, wie das untersuchte, hatten sich unterdessen auf das Doppelte vergrössert. Die Nachuntersuchung ergab, dass sie sich in Bezug auf Asparagin und Salpeter genau so wie bei der am 30. Juli angestellten Vorprüfung verhielten.

Wenig geeignet zur Asparagin-Anhäufung scheint

17. **Achyranthes Verschaffeltii** zu sein. Am 30. Juli wurden junge und alte Blätter nebst ihren Stielen verdunkelt, während man die noch übrigen 6 Blattpaare im Hellen wachsen liess. Am 6. August wurden die verdunkelten Theile untersucht. Es konnte wohl deutlich Salpeter, aber nicht mit vollständiger Sicherheit Asparagin gefunden werden. Diese Organe wurden nun noch weitere 8 Tage im Finstern gehalten, und alsdann waren im Stiele des jungen Blattes neben Salpeter- auch Asparagin-Krystalle sicher zu constatiren. Im jungen Blatte schien letzteres nur in Spuren vorhanden zu sein, während Salpeterkrystalle deutlich erkannt werden konnten. In alten Blättern und Stielen fand ich nur Salpeter. Vom 13. August bis 5. September waren sie im Hellen gewachsen. Am 5. September konnte in allen Theilen die Abwesenheit von Asparagin constatirt werden; dagegen fand sich überall, mit Ausnahme der Blätter, Salpeter in mehr oder weniger grosser Menge vor.

18. **Coleus hybrida**. Eine wachsende Spitze kam am 30. Juli nebst einigen jungen Blättchen ins Dunkle. Bei der Voruntersuchung liess sich kein Asparagin nachweisen, wohl aber in den Blattstielen deutlich Salpeter. In den Blättern kam derselbe nur in Spuren vor. Nach 10 tägigem Wachsthume bei Lichtabschluss fand ich in einem Blättchenstiele deutlich Asparagin neben Salpeter, während im Blatte selbst sehr wenige Krystalle des Amids vorkamen. Am 10. August wurden die verdunkelten Theile wieder dem Lichte ausgesetzt und am 5. September nachuntersucht. Die jungen Blätter vom 10. August waren unterdessen vollständig ausgewachsen, und ich konnte in ihnen weder Asparagin noch Salpeter nachweisen; letzterer fand sich jedoch in den Blattstielen und im Stengel vor.

19. **Pentas carnea**. Vom 6. bis 14. August wurden einige wachsende Theile und einige ausgewachsene Blätter mit Stielen

ins Dunkle gebracht. Am 14. August zeigte ein junges Blatt wenig Asparagin; ebenso verhielt sich der zugehörige Blattstiel. Salpeter fehlte in beiden. In einem älteren Blatte fand sich ebenfalls Asparagin vor, doch fehlte hier Salpeter. Im Stiele dagegen war viel Salpeter vorhanden. Am 14. August setzte ich diese Theile wieder dem Hellen aus; ich fand am 6. September, dass alles Amid überall verarbeitet worden war.

20. **Scutellaria Mocciniana**. Am 6. August war Scutellaria Mocciniana in allen Theilen asparaginfrei. Nach 8 tägigem Verdunkeln der jungen Organe waren in einem Blättchen Asparaginrhomben zu finden, während Salpeter vollständig fehlte. Im zugehörigen Stiele waren beide Verbindungen neben einander vorhanden. In einem ausgewachsenen Blatte, namentlich in der unmittelbaren Nähe des Stieles, zeigten sich Spuren von Asparagin, während im Stiele nur Salpeter angetroffen wurde. Die Pflanze kam nun bis zum 5. September ins Helle. Sie ergab sich bei der Untersuchung als vollständig asparaginfrei. Ueberall, mit Ausnahme der Blätter, liess sich Salpeter nachweisen.

21. **Alocasia makrorrhiza**. Am 14. August wurde Alocasia voruntersucht und liess nirgends Asparagin finden. Ein ausgewachsenes und ein junges, noch zusammengerolltes Blatt wurden in schwarze Papierdüten eingeschlossen und am 21. August wieder auf Asparagin geprüft. Das junge Blatt, das in seinem oberen Ende verdunkelt gewesen war, wies gut ausgebildete rhombische Tafeln des Asparagins auf. Salpeter war auch vorhanden. Ganz anders verhielt sich ein ausgewachsenes Blatt. Hier konnte nur wenig $KNO_3$ und kein Asparagin gefunden werden, wie auch im zugehörigen Stiele nur das Nitrat anwesend war. Bis zum 3. September liess ich Alocasia makrorrhiza im Hellen wachsen, und fand dann nur noch Salpeter vor. Derselbe war in den Blättern in Spuren und in den Stielen in nicht unbedeutender Menge nachweisbar.

22. **Sanchezia glaukophylla**. Ein junges Blatt, das vom 14. bis 21. August im Dunkeln gehalten wurde, liess neben Salpeter auch Asparagin finden, während unter normalen Umständen dasselbe nicht in der Pflanze vorkommt. Im zugehörigen Stiele konnte sowohl die Anwesenheit des Amids als auch die des Nitrats constatirt werden. Ein altes, ausgewachsenes Blatt

zeigte, nachdem es dieselbe Zeit im Dunkeln zugebracht hatte, kein Asparagin, wohl aber deutlich $KNO_3$. Dasselbe gilt vom zugehörigen Blattstiele. Die noch übrigen am 14. August verdunkelten Organe kamen am 22. August ins Helle und verblieben hier bis 7. September. Die jungen Blätter hatten die halbe Grösse der ausgewachsenen erreicht, und ich konnte in ihnen sowohl, als auch in den alten, kein Asparagin antreffen. Der Blattstiel und der Stengel enthielten nur Salpeter.

23. **Centradenia floribunda** und **Fuchsia spec.** In beiden Pflanzen konnte ich erst nach 3 wöchentlicher Verdunkelung der jungen Theile eine Asparagin-Ansammlung bewirken. Alsdann war das Amid in Spuren vorhanden. Die Stiele enthielten sehr wenige Asparagin-Krystalle, deren Anwesenheit in den Präparaten von jungen Blättchen sich nicht mit Sicherheit nachweisen liess. Centradenia floribunda hatte im Finstern ein neues Blättchen getrieben, in welchem ich Asparagin fand. Nach 14 tägigem Wachsthume unter normalen Verhältnissen liess sich nirgends das Amid antreffen.

24. **Dahlia variabilis.** Ein junges Blatt mit Stiel hatte ich am 15. Juli verdunkelt. Ein Blättchen zeigte nach 3 wöchentlicher Verfinsterung deutlich Asparagin-Krystalle. Das Blatt blieb in seinem Wachsthume den anderen jungen Blättern gegenüber stark zurück. Während die übrigen ihre Blattoberfläche bedeutend vergrösserten, blieben die zum Versuche verwendeten Blättchen klein und nahmen eine ganz verschiedene Form an in Vergleich mit den immer unter normalen Bedingungen gewachsenen. Als ich Ende August ein solches Blättchen auf Asparagin prüfte, erzielte ich ein positives Resultat, das sich ebenfalls ergab, als ich die Untersuchung Anfang Oktober wiederholte.

### Versuche ad III.

25. **Dahlia variabilis.** Ein junges Dahliablatt und ein ausgewachsenes wurden am 3. September in einen von Kohlensäure freien Raum gebracht und verblieben hier bis 15. September. Im jungen Blattstiele waren zahlreiche Asparagin-Krystalle zu finden, während die Anzahl derselben in Blattpräparaten sehr spärlich war. Salpeter konnte nicht nachgewiesen werden, obwohl er bei der Voruntersuchung in den Blättchenstielen vor-

handen war. Das alte Blatt verhielt sich anders. In dessen Präparaten konnten wenige Salpeterkrystalle, aber keine von Asparagin erkannt werden. Der zugehörige Stiel war asparaginfrei, enthielt aber viel Salpeter.

26. **Nicotiana latifolia**. Am 5. September wurde eine noch wachsende Spitze auf oben beschriebene Weise in eine von Kohlensäure gereinigte Luft gebracht, während die übrigen Theile ungestört assimiliren konnten. In Präparaten von jungen Blättern konnte am 15. September eine Anzahl der charakteristischen Asparagin-Rhomben nachgewiesen werden, während Salpeterkrystalle gänzlich fehlten. Ein älteres Blatt enthielt im Zellsafte wenig Asparagin und wenig Salpeter gelöst.

27. **Kennedya Baumannii**. Eine wachsende, junge Stengelspitze mit jungen Blättern zeigte am 15. September, nachdem sie seit 5. September in einer von Kohlensäure freien Luft gewachsen war, einen deutlichen Asparagin-Gehalt. Salpeter konnte nur im Stengel nachgewiesen werden. Ein altes Blatt mit Stiel, das zu einem gleichen Versuche herangezogen war, enthielt nur Salpeter, aber kein Asparagin.

28. **Ipomaea digitata**. Am 6. September konnte bei der Voruntersuchung nirgends das Amid angetroffen werden. An demselben Tage wurde eine junge Stengelspitze in einen von Kohlensäure gereinigten Raum gebracht, während die übrige Pflanze unter normalen Umständen wuchs. Am 18. September war im Stengel Asparagin in nachweisbaren Mengen vorhanden, während Salpeter spärlich vorkam. Ein junges Blatt und dessen Stiel war asparaginhaltig, aber frei von Salpeter.

29. **Dioscorea sinuata**. Ein Stengel in Verbindung mit der ganzen Pflanze liess ich vom 8. bis 18. September in Luft wachsen, welcher durch Kalilauge die Kohlensäure entzogen worden war. Im jungen Stengel war deutlich Asparagin neben Salpeter zu finden, was auch vom Stiele eines jungen Blattes galt. Im jungen Blättchen konnte ich nur Asparagin nachweisen. Salpeter fehlte gänzlich. In den älteren Theilen des Stengels und in ausgewachsenen Blättern in ihren Stielen liess sich nur die Anwesenheit von Salpeter constatiren.

30. **Cissus Roylei** wurde vom 7. bis 18. September in kohlensäurefreier Luft gehalten und verhielt sich wie Dioscorea sinuata.

31. **Nicotiana Tabacum**. Einzelnen Theilen wurde vom 4. bis 18. September die Möglichkeit der Assimilationsthätigkeit entzogen. In den jungen Theilen waren am 18. September deutliche rhombische Tafeln des Asparagins zu finden. Der Salpetergehalt schwand in den Organen um so mehr, je jünger dieselben waren. Dagegen häufte sich das Amid da am meisten an, wo das Wachsthum am schnellsten vor sich ging. In einem alten Blatte und dem zugehörigen Stiele konnte nur Salpetergehalt constatirt werden. Im wachsenden Blüthenstielchen traf ich neben Salpeter auch viel Asparagin, und in den jüngsten Blättchen endlich nur das Amid an.

32. **Salvia fulgens**. Je älter der Stengel war, um so weniger Asparagin- und desto mehr Salpeterkrystalle konnte ich in den hergestellten Präparaten beobachten, während in der jungen Stengelspitze neben einem beträchtlichen Asparagingehalt Spuren von Salpeter vorkamen. In einem alten Blattstiele und im zugehörigen Blatte fand ich nur Salpeter, während Asparagin sich in den Stielen jüngerer Blätter leicht nachweisen lässt. Ganz junge Blättchen enthielten Salpeter nur in Spuren neben reichlichem Amidgehalt. In schon älteren und noch wachsenden Blättern traf ich beide Verbindungen in fast gleichen Mengenverhältnissen an.

33. **Pentas carnea** und **Fuchsia spec**. verhielten sich wie die übrigen Gewächse, nur dass in beiden die Asparagin-Ansammlung sehr langsam vor sich ging und sehr spärlich ausfiel.

34. **Coleus hybrida**. Es wurden einige Theile wie bei den übrigen zu Versuchen herangezogenen Pflanzen in kohlensäurefreier Luft gehalten (24. September bis 10. Oktober). Die alten Blätter und ihre Stiele enthielten kein Asparagin und wenig Salpeter. Die jüngeren Blätter liessen sehr wenig Amid finden, welches dem Stielchen gänzlich fehlte. Dagegen zeigte eine junge Stengelspitze deutliche Asparaginkrystalle, liess aber keinen Salpeter antreffen.

35. **Tradescantia zebrina** wurde vom 25. September bis 9. Oktober mit dem oberen Theile des Stengels, der noch wachsende Blätter besass, in eine kohlensäurefreie Atmosphäre gebracht. Bei der Voruntersuchung am 25. September war die Pflanze in allen Theilen asparaginfrei. Das Amid wurde in einem jungen

Blatte am 9. Oktober gefunden, Es waren sehr wenige Krystalle desselben vorhanden, während bei Zusatz von in concentrirter Schwefelsäure gelöstem Diphenylamin eine intensive tietblaue Färbung eintrat.

Reichlicher als in Tradescantia zebrina wurde in

36. **Heteropsis ovata** durch die gleichen Manipulationen Asparagin angehäuft. Salpeterkrystalle fanden sich in allen Präparaten vor.

Die zu den beschriebenen Versuchen verwendeten Pflanzen wurden mir von Herrn Geheimrath Prof. Dr. SCHENK gütigst zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank abstatte.

Durch die vorliegenden Untersuchungen wurden folgende Resultate erzielt:

1. Das durch Verdunkelung in der Pflanze angehäufte Asparagin wird unter normalen Verhältnissen im pflanzlichen Organismus verbraucht. Es ist daher nicht als ein Nebenproduct des Stoffwechsels aufzufassen.
2. Asparagin häuft sich in den wachsenden Organen einer Pflanze an, wenn man dieselbe nur in jenen Theilen verdunkelt. Es ist deshalb die Annahme als falsch zurückzuweisen, dass die Assimilationsproducte die Verarbeitung dieses Amids zu Eiweissstoffen bedingen.
3. Der Assimilationsprocess als solcher, der status nascendi der Kohlehydrate, führt die Verwendung des Asparagins zur Protoplasmabildung in der Pflanze herbei.

# VITA.

Ich, CARL OSKAR MÜLLER, wurde am 14. Januar 1865 zu Meerane i. S. geboren, wo der Vater Klempnermeister ist. Meinen ersten Unterricht erhielt ich in der höheren Bürgerschule meiner Vaterstadt. Seit 1875 besuchte ich die Realschule II. Ordnung ebendaselbst, welche ich 1880 verliess, um bis zum Jahre 1883 dem Realgymnasium zu Zwickau i. S. als Zögling anzugehören. Nach bestandenem Maturitäts-Examen bezog ich die Universität Leipzig und widmete mich hier dem Studium der Naturwissenschaften und speciell der Chemie. Vorlesungen habe ich bei folgenden Herren Professoren und Docenten gehört: AMBRONN, BEHREND, DYCK, HANKEL, HANTZSCH, HOFMANN, KOLBE, LEUCKART, V. MEYER, SCHENK, WEDDIGE, G. und E. WIEDEMANN, WUNDT, ZIMMERMANN und ZIRKEL. Praktische Untersuchungen habe ich in den Instituten des Herrn Geheimrath Prof. Dr. G. WIEDEMANN und des Herrn Geheimrath Prof. Dr. SCHENK ausgeführt.

Allen seinen akademischen Lehrern spricht Verfasser dieser Dissertation an dieser Stelle seinen aufrichtigsten Dank für das ihm zu Theil gewordene Wohlwollen aus und dankt im Besonderen Herrn Privatdocent Dr. ZIMMERMANN für die freundlichen Rathschläge, mit denen er ihm bei diesen Untersuchungen jederzeit bereitwilligst zur Seite stand.

Leipzig, 15. Februar 1886.